取扱説明書

QTempo®
測定方法

本プロトコルは、"MEA ディッシュへの播種方法"または "Quick protocol"にひき続いて実施してください。

準備するもの
・ReproCardio Culture Medium(Cat.No.RCESD003 or RCESD003-S)
・QTempo Assay Medium (Cat.No.RCESD004)
・被験化合物 (DMSO または QTempo Assay Medium に希釈)
・心筋細胞を接着させた MEA 電極ディッシュ
弊社使用ディッシュ:マルチ電極アレー 200/30iR-Ti-gr マルチチャンネルシステムズ(MCS)社製
・測定装置 MEA system with temperature controller (Multi channel systems)
・マイクロピペット、ピペットチップ
・CO_2 インキュベーター

測定
※アッセイは全て 37℃の条件下で行ってください。
※QTempo Assay Medium(4℃保存)を 37℃に温めておいてください。

1、アッセイ準備
1-1、心筋細胞を接着させた MEA 電極ディッシュ内の ReproCardio Culture Medium を 600 uL 除き(この操作で 100 uL の培地が残ります)、37℃に温めた QTempo Assay Medium を 500 uL 入れます。このとき、細胞がはがれないよう、ディッシュの縁のほうからゆっくりと入れてください。
1-2、MEA 電極ディッシュ内の QTempo Assay Medium 500 uL を除き、新しい QTempo Assay Medium 500 uL を入れます。
1-3、MEA 電極ディッシュ内の QTempo Assay Medium 500 uL を除き、新しい QTempo Assay Medium を 700 uL 入れます(この操作で MEA 電極ディッシュ内の培地は 800 uL になります)。
1-4、MEA 電極ディッシュを 37℃,5% CO_2 インキュベーターにいれ、20 分間インキュベートします。

2、被験物質準備
2-1、被験物質を QTempo Assay Medium で検定濃度の 100 倍濃度に調製します。
例、100 nM の検定を行いたい場合、10 uM に調製します。
2-2、すべての濃度の化合物を調製し、37℃,5% CO_2 インキュベーターでインキュベートします。(使用時までインキュベーター内において おきます)

3、Quality control の測定
3-1、インキュベートした MEA 電極ディッシュを取り出し、顕微鏡で拍動の有無を確認します。ここで拍動がなかった場合、一度 ReproCardio Culture Medium に培地を交換し、インキュベートして拍動が再開するか確認してください。拍動が再開した場合は、1、アッセイ準備の手順を再度行ってください。
3-2、拍動を確認しましたら、MEA 電極ディッシュを測定装置にセットします。

4、測定
4-1、QTempo Assay Medium 800 uL から 8 uL を除き、被験化合物希釈液 8 uL を添加してください。
4-2 測定装置上に 2 分間静置し、2 分間の波形を取得します。
4-3、測定終了後、QTempo Assay Medium800 uL から 8 uL を除き、次の被験化合物希釈液 8 uL を添加してください。
4-4、被験濃度が終了するまで、4-1~3 を繰り返してください。

注意:DMSO 最終濃度は 1%(v/v 測定バッファー)以下となるよう調整してください。

株式会社リプロセル
http://www.reprocell.com
E-mail: info_repro@reprocell.com